

ROYAUME DE BELGIQUE

BREVET D'INVENTION



MINISTRE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1012712A6

NUMERO DE DEPOT : 09900403

Classif. Internat. : A61K C07K

Date de délivrance le : 06 Février 2001

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;
Vu l'arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;
Vu le procès verbal dressé le 10 Juin 1999 à 10H00 à l'Office de la Propriété Industrielle

ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : MESSADEK Jallal
place des Béguinages 2, B-4000 LIEGE(BELGIQUE)

un brevet d'invention d'une durée de 6 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : PEPTIDES ANTITHROMBOTIQUES.

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 06 Février 2001
PAR DELEGATION SPECIALE :


E. WUYTS
CONSEILLER

PEPTIDES ANTITHROMBOTIQUES.

5

10 L'invention concerne l'utilisation d'un peptide composé d'une bêtaïne associée à un acide aminé par une liaison peptidique, afin d'éliminer ou de prévenir les atteintes physiopathologiques vasculaires résultant de l'ischémie et de la thrombose.

15 Selon l'invention les acides aminés pouvant être associés à la bêtaïne par une liaison peptidique sont : l'aspartate, glutamate, lysine, arginine, histidine, sérine, threonine, asparagine, glutamine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, méthionine, phénylalanine, glycine, cystéine, tyrosine et tryptophane.

20 L'invention se rapporte à l'activité curative et préventive de ce peptide dans la pathogénie des maladies thromboemboliques et hémostatiques d'origine artérielles ou veineuses. En effet il apparaît que l'administration d'un peptide, composé d'une bêtaïne associée à un acide aminé par une liaison peptidique, évite la formation du thrombus veineux ou artériel et exerce une puissante action thrombolytique et fibrinolytique en dissolvant le caillot ou le thrombus déjà formé.

25 L'invention consiste en ce que le peptide exerce une activité tant à l'état préthrombotique qu'à l'état post-thrombotique. En effet, le peptide a une activité préventive en empêchant la formation des thrombi et une activité curative en inhibant la thrombose. L'intérêt de l'invention réside dans le fait que l'utilisation de ce peptide ne présente aucun risque hémorragique par opposition aux molécules et traitements actuellement utilisés.

30 Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme face à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est une masse organisée d'éléments sanguins (plaquettes, globules rouges et globules blancs), de fibrine et d'autres protéines plasmatiques, qui est déposée à la surface ou qui obstrue la lumière du système cardio-vasculaire. Les mécanismes de la thrombose ressemblent à ceux de l'hémostase, mais sont pathologiques par la localisation intravasculaire anormale.

35 Les thromboses et les embolies sont la cause principale des complications cliniques des maladies cardio-vasculaires et de l'athérosclérose.

Il existe plusieurs types de thromboses qui peuvent survenir au niveau des artères, des veines, de la microcirculation des organes, des cavités du cœur et des surfaces artificielles en contact avec le sang. Les thromboses vasculaires sont une réponse de l'organisme à l'agression de la paroi du vaisseau et de son contenu cellulaire et plasmatique. La thrombose est une masse organisée d'éléments sanguins (plaquettes, globules rouges et globules blancs), de fibrine et d'autres protéines plasmatiques, qui est déposée à la surface ou qui obstrue la lumière du système cardio-vasculaire. Les mécanismes de la thrombose ressemblent à ceux de l'hémostase, mais sont pathologiques par la localisation intravasculaire anormale.

45

Les thromboses et les embolies sont la cause principale des complications cliniques des maladies cardio-vasculaires et de l'athérosclérose.

D'après Virchow, au moins trois types de facteurs thrombogènes déterminent la localisation, l'extension et la régression d'une thrombose :

-2-

- Les facteurs hémodynamiques et rhéologiques;
 - La lésion endothéliale;
 - L'activation des constituants du sang, en particulier des plaquettes et de la coagulation
- 5 qui aboutit à la formation de thrombine.

La maladie thromboembolique, d'origine artérielle ou veineuse reste la cause principale de décès dans les pays développés.

- 10 La thrombose artérielle est souvent une complication de l'athérosclérose alors que la thrombose veineuse résulte plus fréquemment d'un déficit en un inhibiteur de la coagulation et de la fibrinolyse ou d'une stase. En effet, si tous les deux résultent d'une interaction entre le sang et la paroi vasculaire, la formation d'une thrombose veineuse et/ou par une anomalie de l'hémostasie. La thrombose artérielle est le plus souvent secondaire à une anomalie pariétale et
- 15 implique principalement les plaquettes sanguines. Elle contribue à une large variété de tableaux cliniques selon les lits artériels intéressés par l'interruption de la vascularisation. La thrombose peut atteindre principalement les artères cardiaques (coronaires), les artères des membres inférieurs, cérébrales ou digestives. Ainsi, la maladie artérielle favorise la formation du thrombus lui même responsable de la majorité des occlusions vasculaires terminales. De plus la
- 20 participation du désordre de l'hémostasie et du thrombus formé à d'autres lésions vasculaires est manifeste : aggravation des lésions de la paroi, ischémie et troubles de la microcirculation.

On peut distinguer trois stratégies thérapeutiques dans la prévention des accidents liés aux thromboses.

- 25 Les anticoagulants. Ils constituent l'élément majeur de la prise en charge d'un patient présentant une affection thromboembolique. L'héparine et ses dérivées sont couramment utilisés. Cependant, l'utilisation des héparines peut engendrer deux complications majeures, l'hémorragie ou la thrombopénie.

- 30 Les anti-vitamines K (AVK). Prescrites pour des traitements au long cours, elles ne peuvent être utilisées dans l'urgence et ne peuvent être prescrites simultanément avec d'autres anti-agrégants dont elles potentialisent l'effet hémorragique.

- Les anti-agrégants plaquettaires. Prescrits pour prévenir la thrombose artérielle liée à l'athérosclérose. Actuellement les principaux inhibiteurs du fonctionnement plaquettaire prescrits sont : l'aspirine, la ticlopidine, le dipyridamole, et certains anti-inflammatoires non
- 35 stéroïdiens comme le flurbiprofène, la prostacycline. Ces traitements possèdent une réelle efficacité toute en présentant des effets indésirables sur les patients à terrains allergiques ou hémorragiques.

- Tous ces traitements malgré leurs efficacité nécessitent des précautions particulières dans leurs utilisations, telles que l'administration d'antidotes, les problèmes de surdosages et les effets
- 40 secondaires non désirables. Il était donc intéressant de trouver une molécule à haut potentiel antithrombotique sans effets indésirables.

- La bétaine est connue pour son rôle osmoprotecteur, il est apparu de manière tout à fait inattendue qu'en associant un acide aminé par une liaison peptidique à la bétaine, le peptide
- 45 ainsi obtenu possédait un haut potentiel d'efficacité contre les risques thromboemboliques et ischémiques tout en ne présentant aucun effet indésirable. En effet, les résultats expérimentaux liés à la toxicité de la molécule démontrent sa parfaite innocuité

Il apparaît donc que le peptide peut être utilisée pour diverses applications cliniques telles que :

- les maladies cardio-vasculaires (infarctus, angine de poitrine, anévrisme, athérosclérose, embolie pulmonaire, phlébite, insuffisance cardiaque),
- Les accidents de circulation sanguine dans le cerveau et leur prévention,
- les chocs post-traumatiques d'origine chirurgicale ou non.
- La prévention des accidents de microcirculation dans les cas suivants : diabète, hémophilie, chimiothérapie, âge, contraception orale par les oestrogènes, obésité, tabagisme, prothèse.
- La prévention des risques liés à l'administration des produits de contraste ioniques et non ioniques.

MATERIELETMETHODE

A/ Principe

Dans ce modèle, la lésion de la paroi vasculaire est induite par un faisceau laser. Ce faisceau d'un diamètre de 2 micromètres, entraîne une lésion limitée de l'endothélium vasculaire (seulement 1 à 2 cellules sont détruites). La mise à nu du sous-endothélium, surface thrombogène, amène l'adhésion des plaquettes par l'intermédiaire de la glycoprotéine Ib. Cette adhésion des plaquettes est suivie par leur activation. Elle forment des pseudopodes et sécrètent le contenu de leurs granules. Cette activation entraîne l'apparition de la glycoprotéine IIb-IIIa nécessaire à l'aggrégation des plaquettes entre elles. Cela en présence du fibrinogène.

Cette lésion est induite au niveau de la microcirculation mésentérique du rat. Elle est immédiatement suivie par la formation d'un thrombus (quelques secondes). Ce thrombus qui grossit rapidement, sous l'effet du flux sanguin, embolise avant de se former à nouveau.

B/ Méthode

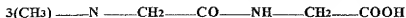
b : Animaux

Cette étude nécessite des rats Wistar mâles. Leur poids est compris entre 250 et 300 grammes.

L'évaluation de l'effet du peptide a été mené conjointement à l'étude de deux molécules pharmacologiquement actives utilisées comme référence: l'acide acétylsalicylique et l'héparine.

Après une période de stabulation de 8 jours, les rats sont soumis à un jeûne de 12 heures. Ils sont ensuite anesthésiés. Une laparotomie médiane est effectuée et le mésentère peut alors être dégagé, puis placé sur la platine du microscope. Trois artérioles et une veinule, d'un diamètre compris entre 15 et 25 µm, sont visualisées puis analysées pour chaque rat. Au cours de l'expérience, le mésentère sera régulièrement humidifié avec une solution isotonique de chlorure de sodium à 0.9% maintenue à 37° C, afin d'éviter son dessèchement. En effet, l'éclairage de la préparation est réalisé grâce à une lampe halogène puissante qui peut assécher le mésentère. La puissance du faisceau laser à la sortie du tube est de 120 mW, et ce faisceau est appliqué sur l'artériole pendant 1/15^{ème} de seconde. Ces paramètres ont fait l'objet d'études préliminaires et ont été validés.

Dans les exemples suivants on étudiera le peptide glycine-bétaïne dont la formule est:



EXEMPLES:

- Exemple 1 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers

	Nombre d'embolies	Durée d'embolisation (minutes)
Témoin négatif (NaCl 0,9%)	$5,33 \pm 0,58$	2 ± 0
Glycine-bétaïne 5mg/kg	2 ± 0	1 ± 0
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	1 ± 1	$0,33 \pm 0,58$
Héparine 2 mg/kg	$2,67 \pm 0,58$	1 ± 0

Les résultats montrent que le peptide réduit d'une façon significative le nombre d'embolies et le temps d'embolisation après altération vasculaire par des tirs lasers.

10

Exemple 2 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée

	THP (secondes)
Témoin négatif (NaCl 0,9%)	$101,52 \pm 5,7$
Glycine-bétaïne 5mg/kg	95 ± 5
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	$276,67 \pm 20,82$
Héparine 2 mg/kg	$313,33 \pm 20$

- Les résultats montrent que le peptide diminue significativement le temps d'hémorragie provoquée comparativement aux témoins positifs.

Exemple 3 : Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers

	Amplitude (Ohms)	Vélocité (Ohms/min)
Témoin (NaCl 0,9%)	13 ± 1	9 ± 1
Glycine-bétaïne 5mg/kg	$0,66 \pm 1,15$	$1,66 \pm 1,15$
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	$2,33 \pm 2,08$	2 ± 1
Héparine 2 mg/kg	$4,33 \pm 0,57$	$2,66 \pm 0,50$

Les résultats montrent que le peptide diminue significativement les paramètres de l'agrégation plaquettaire comparativement aux témoins positifs.

5

Exemple 4 : Evaluation de l'effet de la vis à vis des cellules sanguines
a/ Dénombrement des plaquettes

	Nombre de plaquettes (10^9)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	788 \pm 30.14
Glycine-bétaïne 5mg/kg	804.67 \pm 20.03
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	855.33 \pm 63.17
Héparine 2 mg/kg	777.33 \pm 6.43

10

b/ Dénombrement des globules blancs

	Nombre des globules blancs (10^9)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	5.03 \pm 0.20
Glycine-bétaïne 5mg/kg	4.43 \pm 0.32
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	4.33 \pm 1.00
Héparine 2 mg/kg	5.80 \pm 0.10

15

c/ Dénombrement des globules rouges

	Nombre des globules rouges (10^9)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	6.56 \pm 0.15
Glycine-bétaïne 5mg/kg	6.19 \pm 0.25
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	6.15 \pm 0.31
Héparine 2 mg/kg	6.20 \pm 0.20

Exemple 5 : Bilan biologique

5 a/ Temps de Quick

	TQ (secondes)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	17 ± 1
Glycine-bétaïne 5mg/kg	16.9 ± 1.05
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	18.33 ± 2.08
Héparine 2 mg/kg	29.50 ± 0.52

10 b/ Temps de céphaline activée (TCA)

	TCA (secondes)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	20.5 ± 0.5
Glycine-bétaïne 5mg/kg	39.9 ± 1.05
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	27.26 ± 1.1
Héparine 2 mg/kg	39.46 ± 1.36

15 c/ Dosage du fibrinogène

	Fibrinogène (g/l)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	2.45 ± 0.19
Glycine-bétaïne 5mg/kg	1.7 ± 0.1
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	2.19 ± 0.33
Héparine 2 mg/kg	2.13 ± 0.25

d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine ($\alpha 2AP$)

	$\alpha 2AP$ (%)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	30.16 ± 0.85
Glycine-béataïne 5mg/kg	29.7 ± 0.68
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	29.36 ± 0.92
Héparine 2 mg/kg	29.4 ± 1.01

5

e/ Dosage de l'Antithrombine 3 (AT3)

	AT3 (%)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	86 ± 3
Glycine-béataïne 5mg/kg	89.5 ± 1.37
Acide acétylsalicylique 100mg/kg	85.33 ± 3.51
Héparine 2 mg/kg	77.66 ± 1.52

10

Commentaire : Dans les études menées sur la base du modèle de thrombose expérimentale induite par lésion endothéliale, l'application d'un tir laser sur la paroi vasculaire provoque une destruction limitée de quelques cellules endothéliales. Cette destruction provoque l'activation du complexe plaquette-paroi vasculaire qui est immédiatement suivie par l'activation de l'hémostase plasmatique déclenchant ainsi le processus d'apparition d'une thrombose. Rappelons que ce modèle expérimental, largement utilisé par ailleurs (Seiffge D. et coll., 1989 ; Weichter W. et coll., 1983), est régulé par des inhibiteurs endogènes de l'agrégation plaquettaire : prostacycline et ses analogues (Maraganore J.M., 1993). D'où l'intérêt représenté par l'utilisation de ce modèle pour étudier les effets des produits de contraste, car il permet l'observation directe de la formation du thrombus au site de la lésion vasculaire. Ces résultats expliquent l'apparition d'occlusions thrombotiques lors des angioplasties, surtout chez des patients, dont l'endothélium est déjà endommagé ou lésé. L'angioplastie coronaire cause une dénudation de l'endothélium, exposant le collagène, l'élastine et les cellules musculaires lisses au sang circulant, en analogie avec le

15

20

modèle de thrombose expérimentale utilisé. Ainsi, l'apparition de nouveaux thrombi est plus élevée chez des patients présentant un infarctus du myocarde récent ou une plaque coronaire excentrique.

5

Le traitement avec le peptide inhibe les complications thromboemboliques déclenchées par les tirs lasers. En effet, ce traitement avec le peptide, avant les tirs lasers diminue l'adhésion des plaquettes et leur aggrégation au niveau vasculaire.

Le traitement avec le peptide inhibe les complications thromboemboliques. En effet, ce traitement avec le peptide, avant l'induction de la thrombose, a montré un haut potentiel antithrombotique au niveau de tous les paramètres entrant en jeu dans le processus de la formation du thrombus. De plus, les résultats des paramètres biologiques démontrent la parfaite innocuité du peptide qui contrairement aux produits de référence utilisés (aspirine et héparine), n'induit aucun effet secondaire (voir exemples). Ces caractéristiques confèrent au peptide, en plus de son efficacité démontrée, la particularité de pouvoir être administré aux personnes à risque (diabétiques, hémophiles, allergiques).

Le peptide selon l'exemple 1 réduit très significativement le nombre d'embolies par rapport au témoin. Le peptide n'a pas d'activité hémorragique (exemple 2). L'exemple 3 démontre l'activité anti-agrégante du peptide. Les résultats de l'exemple 4 démontrent qu'il n'y a pas de différence dans le dénombrement des cellules sanguines par rapport au témoin. Le résultat expérimental de l'exemple 5, c, démontre un haut potentiel fibrinolytique et anti-inflammatoire du peptide.

Il est à noter que, dans les mêmes conditions expérimentales, pour la conservation du sang le peptide est apparu comme possédant un haut pouvoir anti-coagulant comparativement à des tubes héparinés ou contenant de l'E.D.T.A. Les doses actives du peptide sont apparues entre 3 et 5 mg par tube à hémolyse. Ce résultat expérimental démontre un haut potentiel anticoagulant du peptide. L'utilisation du peptide comme anticoagulant peut être revendiquée, tant pour le traitement du corps humain, in vivo, que pour la conservation du sang ex vivo, pour la circulation extracorporelle en chirurgie ainsi que la conservation d'organes pour les transplantations.

Dans le cadre de la recherche sur les effets anti-thrombotiques et dans le souci de compléter l'approche de l'efficacité du peptide glycine-bétaine, nous avons évalué l'effet de ce peptide sur l'augmentation des risques thromboemboliques liés à l'utilisation des produits de contraste connus pour leurs pouvoirs prothrombotiques.

Deux produits de contrastes ont été étudiés : Hexabrix® (ionique) et Iopamidol® (non ionique)

Exemple 6 : Evaluation du nombre d'embolies et de la durée d'embolisation après altération vasculaire par les tirs lasers et administration des produits de contrastes.

	Nombre d'embolies	Durée d'embolisation (minutes)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	5.33 ± 0.58	2 ± 0
Hexabrix®	8 ± 1	3.67 ± 0.58
Iopamidol®	11.67 ± 0.50	6.33 ± 0.52
Glycine-béataïne 5mg/kg + Hexabrix®	4 ± 1	2 ± 0
Glycine-béataïne 5mg/kg + Iopamidol®	5.33 ± 0.58	2.33 ± 0.48

5

Exemple 7 : Evaluation du temps d'hémorragie provoquée (THP)

	THP (secondes)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	101.52 ± 5.7
Hexabrix®	195 ± 13.23
Iopamidol®	128 ± 7.64
Glycine-béataïne 5mg/kg + Hexabrix®	150 ± 5
Glycine-béataïne 5mg/kg + Iopamidol®	111 ± 6.60

10 Exemple 8: Evaluation de l'agrégation plaquettaire après altération vasculaire par les tirs lasers

	Amplitude (Ohms)	Velocité (Ohms/min)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	13 ± 1	9 ± 1
Hexabrix®	6 ± 1	5.66 ± 0.57
Iopamidol®	15 ± 2.64	12.33 ± 0.50
Glycine-béataïne 5mg/kg + Hexabrix®	2 ± 1	5 ± 0
Glycine-béataïne 5mg/kg + Iopamidol®	4.66 ± 0.52	9.33 ± 0.8

Exemple 9 : Evaluation de l'effet du peptide vis à vis des cellules sanguines
a/ Dénombrement des plaquettes

5

	Nombre plaquettes (10^9)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	788.33 \pm 30.14
Hexabrix®	620 \pm 10
Iopamidol®	585.67 \pm 23.54
Glycine-béataïne 5mg/kg + Hexabrix®	669.67 \pm 7.37
Glycine-béataïne 5mg/kg + Iopamidol®	704.33 \pm 92.33

b/ Dénombrement des globules blancs

	Nombre globules blancs (10^9)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	5.03 \pm 0.20
Hexabrix®	2.96 \pm 0.21
Iopamidol®	3.06 \pm 0.35
Glycine-béataïne 5mg/kg + Hexabrix®	4.20 \pm 0.1
Glycine-béataïne 5mg/kg + Iopamidol®	3.9 \pm 0.3

10

c/ Dénombrement des globules rouges

	Nombre globules rouges (10^9)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	6.56 \pm 0.15
Hexabrix®	5.43 \pm 0.47
Iopamidol®	5.5 \pm 0.36
Glycine-béataïne 5mg/kg + Hexabrix®	6.5 \pm 0.15
Glycine-béataïne 5mg/kg + Iopamidol®	6.6 \pm 0.19

Exemple 10 : Bilan biologique

a/ Temps de Quick

5

	TQ (secondes)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	17 ± 1
Hexabrix®	24.13 ± 1
Iopamidol®	28.1 ± 0.75
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	16.36 ± 0.56
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	17.83 ± 1.2

b/ Temps de céphaline activé (TCA)

	TCA (secondes)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	20.5 ± 0.5
Hexabrix®	49.3 ± 1.85
Iopamidol®	41.33 ± 0.8
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	25.4 ± 0.61
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	22.4 ± 0.7

10

c/ Dosage du fibrinogène

	Fibrinogène (g/l)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	2.45 ± 0.19
Hexabrix®	1.49 ± 0.18
Iopamidol®	1.5 ± 0.8
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	1.7 ± 0.09
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	1.9 ± 0.1

d/ Dosage de l'alpha.2-Antiplasmine ($\alpha 2AP$)

	$\alpha 2AP$ (%)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	30.16 \pm 0.85
Hexabrix®	23.26 \pm 1.06
Iopamidol®	25.23 \pm 0.95
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	25.66 \pm 0.64
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	28.13 \pm 0.8

e/ Dosage de l'Antithrombine 3 (AT3)

	AT3 (%)
Témoin négatif (NaCl 0.9%)	86.3 \pm 3
Hexabrix®	81.63 \pm 0.66
Iopamidol®	70.6 \pm 1.51
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Hexabrix®	79.1 \pm 1.05
Glycine-bétaïne 5mg/kg + Iopamidol®	87.26 \pm 0.9

Commentaire : L'administration des produits de contraste, diminue le nombre de globules blancs, le nombre de globules rouges et le nombre de plaquettes. Les produits de contraste interagissent avec les leucocytes, induisent la libération de leukotriènes, augmentent ainsi la perméabilité vasculaire et exercent un effet chimiotactique. De plus, les produits de contraste agissent sur le contrôle de l'expression de la P-selectine et provoquent l'adhésion des globules blancs à l'endothélium vasculaire. Il a été suggéré que l'utilisation des produits de contraste était associée avec l'apparition de thrombus d'importance variable en fonction du produit utilisé. Cela signifie que l'effet de ces produits sur la fonction plaquettaire est différent et que les résultats obtenus dans les études expérimentales doivent avoir une importance en Clinique Humaine.

Le traitement avec le peptide inhibe les complications thromboemboliques associées à l'utilisation des produits de contraste. En effet, ce traitement avec le peptide, avant ou pendant l'injection des produits de contraste, diminue l'adhésion des plaquettes et leur agrégation au niveau vasculaire. Ces résultats démontrent l'effet anti-thrombotique et thrombolytique du peptide glycine-bétaine. Il est à noter que les produits de contraste peuvent avoir d'autres effets secondaires telle que la stase sanguine au niveau des cathéters et les lésions endothéliales causées par les procédures d'administrations elles-mêmes. Le peptide remédie à ces effets indésirables.

CONCLUSION

15

Le peptide glycine-bétaine possède les mêmes, voire de meilleures, caractéristiques thérapeutiques que les anti-coagulants et les anti-agrégants étudiés (acide acétylsalicylique et l'héparine), tout en ne présentant aucun effet indésirable.

20

Les performances supérieures en terme d'efficacité thérapeutique du peptide glycine-bétaine par rapport à ces deux molécules (acide acétylsalicylique et héparine) incitent à la formulation d'un médicament ayant pour principe thérapeutiquement actif un peptide comme décrit par l'invention soit: une bétaine associée à un des acides aminés cités. Ce médicament revendiquant, pour le moins, l'indication anti-coagulant et l'indication anti-agrégant. L'efficacité de ces peptides ne se limitant pas aux exemples décrits.

25

De plus le haut potentiel anticoagulant du peptide, et selon les résultats expérimentaux, permet une conservation efficace du sang.

Ces résultats démontrés pour le peptide glycine-bétaine ainsi que ses propriétés thérapeutiques peuvent être revendiqués pour les autres peptides comme décrits et selon l'invention.

35

Exemple11: Evaluation de l'effet du peptide glycine-bétaine vis-à-vis de la thrombose veineuse induite par stase.

5 **1. But de l'étude**

Il est d'étudier l'effet du peptide glycine-bétaine vis-à-vis de la thrombose veineuse induite par stase. Le modèle de thrombose expérimentale induite par stase a été développé dans le but d'étudier la thrombose profonde, les mécanismes impliqués et leur traitement. Ce modèle a été réalisé dans le but d'évaluer l'activité anti-thrombotique et thrombolytique de la glycine

10 bétaine.

2. Protocole expérimental

Rats Wistar d'un poids compris entre 250 g et 300 g.

15 Nombre de rats : 3 rats / lot

- Les rats ont été anesthésiés à la kétamine et après une laparotomie médiane la veine cave inférieure (juste au dessus de la veine rénale gauche), a été isolée.

- ligature à T0

20 - injection sous cutanée du produit

a) Première expérience : injection du produit à T0 + 2 h; prélèvement des caillots à T0 + 3 h, T0 + 4 h et T0 + 6h (tableau 1).

25 b) Deuxième expérience : injection du produit à T0 + 4 h; prélèvement des caillots à T0 + 5 h et T0 + 6 h (tableau 2).

Après prélèvement et séchage pendant 24 h à température ambiante, les caillots sont pesés.

30 L'effet du produit est évalué par rapport au poids des caillots comparativement au poids des caillots contrôle.

35

3. Résultats

Tableau 1

5

- Ligature à T0
- Injection de la glycine bétaine à T0 + 2 h
- Prélèvement des caillots à T0 + 3 h, à T0 + 4 h et à T0 + 6 h

	T0 + 3h	T0 + 4h	T0 + 6h
contrôle	2,5 ± 0,75	4 ± 0,92	5,1 ± 1,02
glycine bétaine 2,5 mg/kg	2 ± 0,58	1,2 ± 0,81	0,7 ± 0,15
glycine bétaine 5 mg/kg	1,92 ± 0,31	0,9 ± 0,15	0,65 ± 0,2

10

Les valeurs sont exprimées en mg.

Tableau 2

15

- Ligature à T0
- Injection de la glycine bétaine à T0 + 4 h
- Prélèvement des caillots à T0 + 5 h et à T0 + 6 h

	T0 + 5h	T0 + 6h
contrôle	4,2 ± 0,13	6 ± 0,48
glycine bétaine 2,5 mg/kg	3,1 ± 0,27	2,2 ± 0,32
glycine bétaine 5 mg/kg	2,9 ± 0,88	1,8 ± 0,72

20

Conclusion : Les résultats démontrent la puissante activité anti-thrombotique et thrombolytique du peptide glycine-bétaine qui induit une lyse presque complète des caillots.

REVENDICATIONS

- 5 1. Un peptide composé d'une bétaine associée à un acide aminé par une liaison peptidique, caractérisé en ce que les acides aminés pouvant être associés à la bétaine par une liaison peptidique sont : l'aspartate, glutamate, lysine, arginine, histidine, sérine, threonine, asparagine, glutamine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, méthionine, phénylalanine, glycine, cystéine, tyrosine et tryptophane.
- 10 2. Utilisation d'un peptide composé d'une bétaine associée à un acide aminé par une liaison peptidique, afin d'éliminer ou de prévenir les atteintes physiopathologiques vasculaires résultant de l'ischémie et de la thrombose dans un corps vivant .
- 15 3. Un peptide selon la revendication 1 caractérisé en ce que les acides aminés pouvant être associés à la bétaine par une liaison peptidique sont : l'aspartate, glutamate, lysine, arginine, histidine, sérine, threonine, asparagine, glutamine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, méthionine, phénylalanine, glycine, cystéine, tyrosine et tryptophane.
- 20 4. Utilisation d'un peptide, selon les revendications 1 et 2, comme agent thérapeutiquement actif pour traiter les accidents de la circulation du sang dans un corps vivant.
- 25 5. Un peptide selon la revendication 1 pour son usage thérapeutique comme agent anticoagulant.
6. Un peptide selon la revendication 1 pour son usage thérapeutique comme agent anti-agrégant.
7. Un peptide selon la revendication 1 pour son usage comme agent anticoagulant pour la conservation du sang ex vivo et in vitro.
- 30 8. Un peptide selon la revendication 1 pour son usage comme substance antithrombotique.
9. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 comme substance thérapeutiquement active dans le traitement des thromboses.
- 35 10. Utilisation d'un peptide selon les revendications 1 et 2 comme agent thrombolytique.
11. Utilisation d'un peptide selon les revendications 1 et 2 comme agent fibrinolytique.
12. Utilisation d'un peptide selon les revendications 1, 2, 9 et 10 pour la lyse des caillots.
- 40 13. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 comme agent prophylactique pour réduire les risques thromboemboliques.

15. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 en tant que substance
thérapeutiquement active dans le traitement curatif et préventif des accidents cardio-
vasculaires.

16. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 en tant que substance
thérapeutiquement active dans le traitement curatif et préventif des accidents de circulation
sanguine dans le cerveau.

17. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 comme agent thérapeutiquement
actif contre l'athérosclérose.

18. Utilisation d'un peptide selon la revendication 1 en tant que substance
thérapeutiquement active pour contrecarrer les effets thromboemboliques induits par les
produits de contraste.

19. Utilisation d'un peptide selon les revendications 1 et 2 chez les sujets à risque
hémorragique.

20. Utilisation d'un peptide comme principe actif selon l'une quelconque des
revendications 1 à 19 pour la préparation d'une composition ou d'un produit pour le
traitement du corps humain ou animal.

22. Une composition galénique selon l'une quelconque des revendications 1 à 20,
caractérisée en ce qu'elle contient une quantité efficace de peptide dans un support, véhicule ou
excipient pharmaceutiquement acceptable.

Antithrombotic peptides

Publication number: BE1012712

Publication date: 2001-02-06

Inventor:

Applicant: MESSADEK JALLAL (BE)

Classification:

- International: A61K38/05; C07K5/06; A61K38/00; A61K38/05;
C07K5/00; A61K38/00; (IPC1-7): A61K38/05;
A61K38/00; C07K5/00

- European: A61K38/05; C07K5/06A1A

Application number: BE19990000403 19990610

Priority number(s): BE19990000403 19990610

[Report a data error here](#)

Abstract of BE1012712

The invention relates to the use of a peptide composed of a betaine combined with an amino acid with a peptide bond, in order to eliminate or prevent physiopathological vascular disorders resulting from ischemia and thrombosis. According to the invention, the amino acids that can be combined with betaine with a peptide bond are: aspartate, glutamate, lysine, arginine, histidine, serine, threonine, asparagine, glutamine, alanine, valine, leucine, isoleucine, proline, methionine, phenylalanine, glycine, cysteine, tyrosine and tryptophan. The invention relates to the curative and preventive activity of said peptide in the pathogenesis of thromboembolic and haemostatic diseases of arterial or venous origin. Indeed, it has emerged that the administration of a peptide, composed of a betaine combined with an amino acid by a peptide bond, prevents venous or arterial thrombus formation and exerts a strong thrombolytic and fibrinolytic action by dissolving the clot or thrombus already formed.

Data supplied from the [esp@cenet](#) database - Worldwide